

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.)

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) menurut Van (2008) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Dicotyledonae
Subkelas : Rosidae
Ordo : Rurales
Genus : *Swietenia*
Famili : Meliaceae
Spesies : *Swietenia mahagoni* (L)



Gambar 2.1 Tanaman *Swietenia mahagoni* L. (Dokumen pribadi)

2.1.2 Nama Daerah

Mahoni dikenal dengan berbagai nama di berbagai daerah dan bahasa. Di Indonesia, tanaman ini biasa disebut sebagai mahagoni, maoni, atau moni. Belanda menggunakan istilah mahonia atau mahok. Di Jerman, *Echtes mahagoni* adalah nama yang umum digunakan. Italia menyebutnya sebagai magono. Thailand mengenalnya sebagai mahokkani. Malaysia menggunakan nama mahoni cheria. Dan di Portugis disebut mogno dan biasa dikenal dengan nama mahogany (Telrandhe *et al.*, 2022).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Mahoni merupakan tanaman tropis yang termasuk dalam keluarga tanaman Meliaceae. Tanaman mahoni memiliki tinggi berkisar 5-25m. Tanaman ini memiliki jenis batang kayu yang berbentuk bulat dan bergetah. Bidang batangnya memiliki kerak yang lepas dan beralir surut seperti sisik. Tumbuh dengan arah tegak lurus dan condong ke atas. Kulit bagian luarnya berwarna coklat gelap dengan permukaan beralur seperti sisik, dan kulit batangnya berwarna abu-abu. Saat muda, kulitnya licin, tetapi setelah menjadi tua, menjadi berkerut dan bersisik (Alfayed and Riefani, 2022).

Daun mahoni muda berwarna merah sebelum berubah menjadi hijau saat tanaman dewasa. Daunnya berbentuk bulat telur dan panjangnya antara 3-15 cm. Dengan ujung dan pangkal runcing, pertulangan yang menyirip sehingga terbentuk golongan daun majemuk menyirip genap. Filotaksis daunnya adalah *Folia opposita*, yang berarti bahwa dua daun berhadapan di tempat daun atau nodus melekat (Alfayed and Riefani, 2022).

Bunga mahoni termasuk bunga majemuk. Ibu tangkai bunga berwarna coklat muda dan berbentuk silindris. Kelopak bunga yang terpisah secara jelas satu sama lain dalam formasi bulat seperti sendok. Tiap kelopak bunga tampak berwarna hijau. Mahkota bunga berbentuk silindris dengan warna kuning kecoklatan. Bunga mahoni memiliki kepala sari berwarna putih atau kuning kecoklatan dan benang sari melekat pada

mahkotanya. Sebagian besar tanaman mahoni berbunga untuk pertama kalinya saat berusia sekitar tujuh tahun (Yuniarti, 2008).

Buah mahoni adalah jenis buah kotak berwarna coklat dengan biji berwarna coklat kehitaman berbentuk pipih dengan ujung yang tebal. Buahnya berbentuk bulat seperti telur dengan lima lekukan (Alfayed and Riefani, 2022). Buah mahoni, menurut Suhono (2010) memiliki bentuk bulat telur dengan lima lekukan dan berwarna kecoklatan. Buah ini memiliki bagian luar yang sangat keras dengan tebal antara 5-7 mm. Bagian tengahnya memiliki bentuk kolumlar memanjang dengan lima sudut menuju ujungnya. Saat telah matang, buah akan pecah mulai dari ujungnya (Adilah, 2014).

2.1.4 Kandungan Tanaman

Kandungan fitokimia dari *Swietenia mahagoni* L. adalah fosfolipid, alkaloid, fenol, flavonoid, antrakuinon, saponin, terpenoid, glikosida jantung, minyak atsiri, dan asam tak jenuh rantai panjang (Sukardiman and Ervina, 2020). Pada penelitian Rizkika (2017) menyimpulkan adanya senyawa alkaloid, tanin, saponin terpenoid dan flavonoid pada ekstrak etanol daun mahoni. Pada penelitian Falah (2008) dalam biji mahoni mengandung banyak tetranortriterpenoid atau limonoid, 8,30-epoxy-swietenine acetate, swietenolid, swietenolid diacetate, augustinolid, dan 3 β ,6-dihidroksidihidrocarapin.

2.1.5 Tinjauan *Swietenia mahagoni* L. Sebagai Aktivitas Antijamur

Adanya berbagai senyawa metabolit sekunder menyebabkan aktivitas biologis tanaman memberikan sifat-sifat penting, salah satunya adalah antijamur. Tanaman *Swietenia mahagoni* L. telah ditemukan mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder di antaranya seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Yasotha *et al.*, 2019). Kandungan senyawa tersebut diketahui dapat digunakan sebagai antijamur. Alkaloid bekerja sebagai antijamur dengan menghentikan pernapasan sel dan pembentukan protein yang mengakibatkan kegagalan dan kematian jamur (Firdaus *et al.*, 2023). Tanin sebagai antijamur memiliki kemampuan untuk

mencegah sintesis kitin. Sintesis kitin berperan penting dalam pembentukan dinding sel jamur. Dengan mencegah proses ini, tanin dapat menyebabkan membran sel rusak dan menghentikan pertumbuhan jamur (Awaliyah, 2023). Menurut Siswandi *et al.*, (2020) menemukan bahwa saponin menunjukkan aktivitas sebagai antijamur dengan cara memecah lapisan lemak pada membran sel jamur. Hal tersebut mengakibatkan proses difusi bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur terganggu. Gangguan pada membran ini menyebabkan sel jamur membengkak dan pecah. Selanjutnya senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai agen antijamur melalui kemampuannya dalam menghambat pembentukan dinding sel jamur. Senyawa ini dapat mencegah atau memperlambat perkembangan dinding sel jamur, sehingga membatasi pertumbuhan dan perkembangbiakkan jamur (Awaliyah, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Syame *et al.*, (2022) menemukan jika ekstrak metanol daun mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) memiliki sifat antijamur terhadap melawan jamur *Candida albicans*.

Tabel II.1 Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Daun Mahoni (Syame *et al.*, 2022)

<i>Fungal Strain</i>	50 mg/ mL	25 mg/ mL	15 mg/ mL	Amphote ricin B (mg/mL)	Metanol	MIC (mg/ mL)	MFC (mg/ mL)
<i>Inhibition zone (mm)</i>							
<i>A. flavus</i>	18.0 ± 0.2	13.4 ± 0.3	9.5 ± 0.6	19.5 ± 2.3	NA	12.5	25
<i>A. niger</i>	17.2 ± 0.1	12.0 ± 0.5	10.0 ± 1.0	17.2 ± 0.3	NA	12.5	25
<i>A. fumigatus</i>	NA	NA	NA	20.3 ± 0.6	NA	NA	NA
<i>C. albicans</i> (ATCC 10,231)	22.1 ± 1.1	18.1 ± 0.2	13.1 ± 0.3	24.9 ± 1.1	NA	12.5	12.5
<i>C. glabrata</i>	NA	NA	NA	23.0 ± 0.2	NA	NA	NA

Keterangan: Amphotericin B: kontrol positif, Metanol: kontrol negatif, NA: *No Activity*

2.1.6 Manfaat Tanaman

Mahoni menawarkan banyak manfaat kesehatan. Ada beberapa yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antijamur, antikanker, dan antidiabetes. Manusia dapat menggunakan hampir semua bagian tanaman mahoni. Kayu tanaman mahoni dapat digunakan sebagai perabot rumah tangga dan kerajinan ukiran. Tanaman mahoni menghasilkan buah yang digunakan secara komersial sebagai produk perawatan kesehatan. Tanaman mahoni memiliki banyak manfaat medis. Secara mengobati diabetes, hipertensi, dan antiinflamasi (Nursakinah, 2017). Selain itu, ekstrak biji mahoni telah dianggap memiliki sifat antimikroba dan digunakan untuk mengobati leishmaniasis dan aborsi oleh kelompok etnis Amazon bolivia (Yasotha *et al.*, 2019).

2.2 *Candida albicans*

Candida albicans merupakan anggota flora normal yang paling sering ditemukan di saluran pencernaan. *Candida albicans* juga dapat menghuni selaput lendir saluran pernafasan, uretra, vagina, kulit dan area dibawah kuku jari tangan dan kaki. Bagi orang yang lemah atau memiliki sistem imun yang rendah, *candida* berpotensi menyebabkan infeksi sistemik. Hal ini terutama berlaku saat sistem kekebalan berperantara sel terganggu. Jika candida dimasukkan secara intravena, dapat menyebabkan invasi dalam aliran darah, endocarditis, tromboflebitis, atau infeksi pada mata dan organ lainnya (Simatupang, 2009).

2.2.1 Taksonomi *Candida albicans*

Taksonomi *Candida albicans* menurut Waluyo (2004) sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
 Divisi : Ascomycota
 Subdivisi : Fungi
 Genus : Candida

Class : Deuteromycetes
 Family : Cryptococcaceae
 Species : *Candida albicans*



Gambar 2.2 Jamur *Candida albicans* (Drasar, 2003)

2.2.2 Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans memiliki bentuk ragi lonjong, kecil, ditandai dengan tunas dan dinding sel yang tipis. Memiliki ukuran sekitar 2-3 x 4-6 μm dengan panjang menyerupai pseudohifa. Saat tunas-tunas terus tumbuh, *candida* membentuk pseudohifa. *Candida albicans* memiliki kemampuan untuk membentuk rantai sel memanjang yang menyempit pada titik pemisahan antara sel-sel individu karena ketidakmampuan untuk melepaskan diri satu sama lain (Simatupang, 2009). Selain menghasilkan pseudohifa dan bentuk ragi, *Candida albicans* juga dapat menghasilkan hifa sejati.

Spesies *Candida albicans* akan membentuk koloni halus berwarna krem dengan bau seperti ragi saat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk mengetahui perbedaan *Candida albicans* dengan spesies yang lain yaitu dapat dilakukan tes morfologi sederhana dengan cara menginkubasi selama ± 90 menit pada suhu 37°C dalam serum. Sel ragi *Candida albicans* akan mulai membentuk hifa sejati dan pada media yang kekurangan nutrisi menghasilkan klamidospora yang besar dan bulat (Simatupang, 2009).

Candida albicans memiliki beberapa bagian morfologi, di antaranya yaitu membran sel, dinding sel, dan kapsul sel. Membran sel *Candida albicans* tersusun atas struktur dua lapis yang membentuk lapisan terdalam di atas sitoplasma sel jamur. Di dalam membran sel tersebut terdapat sterol

yang sangat mirip dengan yang ada di membran sel manusia. Sterol yang dominan dalam membran sel *Candida albicans* adalah ergosteron. Dinding sel *Candida albicans* sebagian besar terdiri dari karbohidrat, monoprotein, glucan, dan kitin. *Candida albicans* memiliki kapsul sel. Kapsul sel adalah suatu polisakarida yang melapisi dinding sel. Kapsul ini berfungsi untuk melindungi jamur dari sel fagosit (Gladwin *et al.*, 2000).

2.2.3 Patogenesis *Candida albicans*



Gambar 2. 3 Koloni *Candida albicans* (Suraini, 2023)

Candida albicans adalah jamur patogen yang menyerang permukaan kulit, mukosa mulut, dan vagina, yang berpotensi menyebabkan infeksi kandidiasis. Jika masuk ke dalam aliran darah, *Candida albicans* dapat menginfeksi ginjal, membahayakan jantung prostetik, atau berdampak pada selaput otak, sehingga menyebabkan kandidiasis yang dapat berkembang di berbagai lokasi di seluruh tubuh (Rani, 2014).

Proses patogenitas dan infeksi dipengaruhi oleh adhesi. Produksi enzim ekstraseluler dan transformasi dari bentuk khamir ke filamen (Naglik *et al.*, 2004). Pengikatan antara reseptor sel inang dan ligan pada sel *Candida albicans* berkontribusi pada adhesi. Perubahan bentuk *Candida albicans* dari bentuk khamir ke filamen telah dikaitkan dengan sifat patogen dan invasi sel inang. Setelah itu, *Candida albicans* membentuk lapisan biofilm untuk menghindari pengobatan antijamur. Penyakit *Candida albicans* sering dikaitkan dengan produksi aspartil proteinase, enzim hidrolitik ekstraseluler (Naglik *et al.*, 2004).

2.2.4 Gambaran Klinis

Gambaran klinis dari kandidialis adalah sebagai berikut:

1. Kulit

Kulit yang terinfeksi akan tampak kemerahan, sedikit lembab dan bersisik halus. Jamur *Candida* biasanya ditemukan di area kulit yang terlipat seperti ketiak, di antara jari-jari kaki, di lipatan paha, dan di bawah payudara (Jawetz *et al.*, 2005).

2. Mulut

Infeksi mulut, umumnya dikenal dengan sariawan, dapat terjadi khususnya pada bayi di selaput lendir di dalam pipi. Infeksi ini muncul sebagai bercak putih yang tersusun dari pseudomiselium dan epitel yang terkelupas. Perkembangbiakan jamur *Candida* dalam rongga mulut cenderung berkembang pada kondisi tertentu seperti penggunaan kortikosteroid atau antibiotik, defisiensi imun, atau kadar gula darah yang tinggi. Ketika disertai dengan faktor-faktor tersebut, pertumbuhan jamur *Candida* di dalam mulut lebih kuat (Jawetz *et al.*, 2005)

3. Kuku

Kuku yang terinfeksi jamur *Candida* tampak tidak mengkilat, berwarna seperti susu, kehijauan atau kecoklatan. Permukaan kuku yang terkena biasanya tidak rata. Di bawah lapisan luar terdapat bahan rapuh yang dapat mengandung jamur. Bahan rapuh di bawah permukaan ini berpotensi menjadi tempat tumbuhnya jamur (Rani, 2014).

4. Genitalia Wanita

Vulvovaginitis adalah suatu kondisi yang menyebabkan iritasi dan rasa gatal yang hebat pada vulva dan vagina dan disertai keluarnya cairan. Meskipun mirip dengan infeksi jamur, vulvovaginitis memiliki gejala yang berbeda. Hilangnya tingkat pH yang biasanya asam dalam vagina menjadi predisposisi seseorang untuk mengalami vulvovaginitis dengan mengganggu keseimbangan bakteri vagina yang biasanya menjaga lingkungan asam ini (Jawetz *et al.*, 2005).

2.3 Antijamur

Antijamur adalah zat berkhasiat yang digunakan sebagai penanganan penyakit yang disebabkan oleh jamur. Suatu zat dikategorikan sebagai antijamur jika senyawa tersebut mampu menghambat atau membunuh pertumbuhan jamur (Fachriyah, Diah Aqilatul, 2017).

Menurut Siswandono (2000), mekanisme kerja antijamur adalah sebagai berikut:

a. Gangguan pada membran sel

Sel jamur mengandung ergosterol, komponen sterol penting yang rentan terhadap antibiotik poliena. Ketika poliena berinteraksi dengan ergosterol, akan membentuk kompleks yang bisa menciptakan pori-pori di membran sel jamur. Pori-pori ini memungkinkan konstituen intraseluler yang penting seperti ion kalium, asam karboksilat, asam amino, fosfat anorganik, dan ester fosfat berdifusi keluar dari sel. Kebocoran ini pada akhirnya mengakibatkan kematian sel jamur.

b. Penghambatan mitosis jamur

Senyawa antibiotik griseofulvin yang terkandung dalam obat antijamur dapat mengikat protein mikrotubulus di dalam sel jamur. Pengikatan ini mengganggu struktur gelendong mitosis dan menghentikan pembelahan sel pada tahap metafase. Dengan mengganggu proses pembelahan sel jamur, senyawa-senyawa ini menunjukkan efek antijamur.

c. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur

Mengubah permeabilitas dan fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik, sehingga menghambat biosintesis ergosterol dari sel jamur.

d. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein sel jamur

Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu antimetabolit. Antimetabolit yang dihasilkan berikatan dengan asam ribonukleat kemudian menghambat sintesis asam nukleat, sehingga mencegah pertumbuhan dan perkembangbiakan sel jamur.

2.4 Nistatin

Nistatin adalah antibiotik makrolida poliena yang diproduksi oleh *Streptomyces noursei*, digunakan sebagai terapi untuk infeksi oleh spesies *Candida*. Nistatin tidak bisa diserap oleh membran mukosa atau kulit. Akibat kekhawatiran toksisitasnya, antibiotik ini hanya digunakan sebagai terapeutik untuk mengobati infeksi *Candida* yang mempengaruhi kulit, saluran pencernaan, dan membran mukosa. Nistatin disediakan dalam formulasi seperti tetes, tablet oral, tablet vagina, dan supositoria (Chunik Sa'adati, 2021). Dosis yang disarankan untuk penggunaan nistatin topikal pada anak-anak dan dewasa adalah 200.000-600.000 IU/hari, sedangkan pada bayi dan neonatus adalah 100.000-200.000 IU/hari dengan durasi penggunaan satu, dua atau sampai empat minggu (Febritamaya, 2020).

2.4.1 Mekanisme Kerja Nistatin

Nistatin bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel. Senyawa yang terkandung dalam nistatin dapat mengikat sterol terutama ergosterol yang terdapat pada membran sel. Kompleks polien-ergosterol yang terbentuk memiliki kemampuan untuk menciptakan pori pada dinding sel jamur. Pori ini memungkinkan komponen penting dari sel jamur bocor keluar, yang menghambat pertumbuhan jamur (Febritamaya, 2020).

2.5 Uji Aktivitas Antijamur

Uji antimikroba dilakukan untuk mengetahui bagaimana populasi mikroorganisme bereaksi ketika terpapar senyawa antimikroba. Tujuan pengujian antimikroba adalah untuk menetapkan sistem pengobatan yang efektif. Metode dilusi dan difusi adalah dua metode uji aktivitas antimikroba yang paling umum digunakan (Pratiwi, 2008).

2.5.1 Metode Difusi

2.5.1.1 Metode Kertas Cakram (*Kirby and bauer*)

Untuk mengetahui kepekaan antibakteri terhadap antibiotik tertentu, dapat menggunakan metode difusi cakram. Metode ini menggunakan cakram kertas saring untuk menyimpan antimikroba untuk sementara

waktu. Kemudian kertas saring diletakkan di atas plat agar yang berisi mikroorganisme uji. Plat yang diinokulasi, kemudian diinkubasi selama rentang waktu tertentu dan pada suhu yang kondusif untuk pertumbuhan mikroba uji. Umumnya, Umumnya, hasil akan terlihat setelah diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian menunjukkan ada atau tidak adanya area bening di sekeliling kertas cakram menunjukkan area yang tidak memungkinkan pertumbuhan bakteri (Pelczar *et al*, 2008).

2.5.1.2 Metode Cara Parit (*Ditch-plate technique*)

Metode ini melibatkan penempatan sampel uji yang mengandung zat antimikroba di dalam parit memanjang di bagian tengah cawan petri. Pengujian ini dapat mencakup hingga enam spesies mikroba yang digoreskan ke dalam parit yang mengandung zat antimikroba (Pratiwi, 2008).

2.5.1.3 Metode Sumuran (*Hole/Cup-plate technique*)

Metode ini menggunakan suatu lubang pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Lubang tersebut kemudian diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah itu, mikroba uji diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Pengamatan kemudian dilakukan untuk memastikan apakah ada zona tanpa pertumbuhan mikroba di sekitar lubang (Pratiwi, 2008).

2.5.1.4 Metode *E-Test*

Metode ini digunakan untuk menghitung konsentrasi minimal penghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dikenal sebagai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum). Metode ini menggunakan strip plastik yang di dalamnya mengandung agen antimikroba. Strip plastik tersebut kemudian ditempatkan pada permukaan media agar yang diinokulasi dengan mikroorganisme. Pengamatan kemudian dilakukan terhadap zona bening yang terbentuk, yang mengindikasikan jumlah agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

2.5.2 Metode Dilusi

Dilusi merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa terhadap aktivitas mikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Lennette *et al*, 1991). Metode dilusi dapat dibagi menjadi dua kategori: metode dilusi cair dan dilusi padat.

2.5.2.1 Metode dilusi cair (*Broth dilution*)

Prinsip dari metode ini adalah dengan membuat seri pengenceran untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dari berbagai agen antimikroba terhadap mikroba uji. Larutan uji yang mengandung konsentrasi bertingkat dari setiap senyawa antimikroba diinokulasi dengan mikroba yang sedang dievaluasi. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil akan terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai MIC. Larutan yang ditetapkan sebagai MIC kemudian dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji dan selanjutnya iinkubasi selama 18-24 jam. Larutan yang tetap jernih setelah masa inkubasi ini ditetapkan sebagai MIC (Pratiwi, 2008).

2.5.2.2 Metode dilusi padat (*Solid dilution*)

Metode ini memiliki kemiripan dengan metode dilusi cair, tetapi metode menggunakan pengenceran padat. Metode dilusi padat memiliki keuntungan yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji, dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik untuk mengambil senyawa aktif atau senyawa berkhasiat dari tanaman obat, hewan, dan spesies ikan tertentu, termasuk biota laut. Prinsip dasar metode ekstraksi adalah perpindahan massa zat ke dalam pelarut. Perpindahan ini dimulai pada lapisan antarmuka dan kemudian meresap ke dalam pelarut (Dirjen POM, 2000).

2.6.1 Cara Dingin

2.6.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan untuk mengekstrak senyawa yang diinginkan. Proses ini melibatkan perendaman bahan tanaman dalam pelarut untuk melarutkan bahan kimia dan nutrisi dari bahan tanaman ke dalam pelarut. Metode ini memiliki keuntungan karena mudah dilakukan dan hanya membutuhkan peralatan yang sederhana. Sedangkan, kerugiannya adalah bahwa proses pencariannya lama dan membutuhkan pelarut dalam jumlah besar. Senyawa yang tidak tahan panas tidak dapat menggunakan metode ini (Tiwari *et al.*, 2011).

2.6.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut secara terus menerus sampai ekstrak yang dihasilkan optimal (*Exhaustive extraction*). Jenis ekstraksi ini biasanya dilakukan pada suhu ruang. Metode ini terdiri dari tiga tahap: tahap persiapan bahan, maserasi antara, dan tahap perkolasi (penyaringan ekstrak), yang berlangsung terus menerus hingga hasil ekstrak (perkolat) mencapai satu hingga lima kali massa sampel asli (Dirjen POM, 2000).

2.6.2 Cara Panas

2.6.2.1 Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak sampel yang stabil terhadap panas. Metode ini melibatkan pemanasan sampel dalam pelarut yang diletakkan dalam wadah dan dilengkapi dengan kondensor. Saat larutan mendidih, zat terlarut dilarutkan dan dipisahkan untuk dikumpulkan. Durasi yang digunakan biasanya berkisar antara tiga hingga tujuh jam (Apriliana *et al.*, 2019).

2.6.2.2 Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru. Biasanya dilakukan dengan alat khusus sehingga menghasilkan

ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Arrosyid *et al.*, 2023).

2.6.2.3 Digesti

Digesti adalah metode ekstraksi yang hampir sama dengan maserasi, tetapi menggunakan pemanasan rendah (pada 40-50°C). Metode ini umumnya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa (Wulandari, 2022).

2.6.2.4 Infusa

Infusa adalah teknik ekstraksi yang membutuhkan pelarut untuk mencapai suhu 90°C selama 15 menit. Biasanya, bahan serbuk akan dipanaskan dalam panci yang berisi air dalam jumlah yang cukup selama lima belas menit, atau sampai suhu mencapai 90°C (Wulandari, 2022).

2.6.2.5 Dekokta

Dekokta dan infusa adalah metode ekstraksi yang hampir identik. Tetapi, dekokta memerlukan durasi pemanasan yang lebih lama yaitu 30 menit untuk mencapai titik didih air selama pemrosesan (Wulandari, 2022).

2.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dalam pendeteksian dan menentukan struktur senyawa, penggunaan kromatografi sangat dibutuhkan. Substansi campuran dapat dipisahkan menjadi bagian-bagiannya melalui penggunaan kromatografi. Kromatografi Lapis Tipis adalah suatu teknik yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen berdasarkan perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam yang disebabkan oleh pergerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campuran. Pemilihan pelarut pengembang sangat dipengaruhi oleh jenis dan polaritas zat kimia yang dipisahkan (Mulya and Suharman, 1995). KLT menggunakan sampel sebagai analit yang diaplikasikan pada substrat penyerap yang dilapisi bahan pendukung yang kaku. Sampel bermigrasi melalui aksi kapiler melalui substrat, memisahkan menjadi komponen individu berdasarkan partisi diferensial antara substrat dan pelarut yang berkembang. Bahan substrat yang umum termasuk gel

silika atau aluminium oksida yang diaplikasikan sebagai lapisan tipis pada plat plastik, kaca, atau logam yang berfungsi sebagai penyangga pemisahan. (Fried, 1994).

Analisis kuantitatif dilakukan dalam dua cara. Cara pertama, bercak langsung pada lempeng diukur dengan ukuran luas atau densitometri. Cara kedua adalah dengan mengerok bercak pada plat, lalu menetapkan kadar senyawa dalam bercak dengan metode analisis yang berbeda, seperti spektrofotometri. Selain itu, untuk analisis preparatif, sampel yang ditotolkan dalam plat dengan lapisan yang cukup tebal diproses dan diidentifikasi menggunakan metode yang non-destruktif. Bercak yang mengandung analit yang ditargetkan kemudian dikerok untuk dianalisis lebih lanjut (Gandjar, 2007).

Nilai R_f adalah parameter KLT yang digunakan untuk identifikasi senyawa. Senyawa dapat dianggap memiliki nilai yang sama atau sebanding jika nilai R_f nya sama. Nilai R_f digunakan sebagai nilai perbandingan relatif antar sampel. Nilai R_f yang ideal berkisar antara 0,2 - 0,8. Senyawa dengan R_f yang lebih tinggi menunjukkan kelarutan yang lebih rendah, dan sebaliknya. Jika R_f terlalu tinggi, disarankan untuk meningkatkan polaritas eluen. Sebaliknya, jika R_f terlalu rendah, disarankan untuk menurunkan polaritas eluen (Gandjar, 2007). Nilai R_f dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh komponen}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

1. Fase Diam

Dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT), fase diam adalah penyerap partikulat halus dengan ukuran diameter partikel berkisar antara 10-30 μm . Ketika ukuran partikel dan distribusi fase diam menurun, efisiensi dan resolusi kromatografi lapis tipis meningkat. Lapisan tipis yang digunakan sebagai penyerap juga dapat dibuat dari siklodektrin yang digunakan untuk pemisahan kiral, resin penukar ion, silika yang telah dimodifikasi, dan gel eksklusi (Gandjar, 2007).

2. Fase Gerak

Fase gerak yaitu medium angkut yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut. Gaya kapiler menyebabkan fase gerak bergerak melalui fase diam atau lapisan berpori. Jika sistem pelarut multikomponen diperlukan, campuran sesederhana mungkin dengan maksimum tiga komponen direkomendasikan (Stahl, 1985).

2.8 Bioautografi

Bioautografi adalah metode pendekatan langsung bersifat spesifik yang digunakan untuk mengidentifikasi lokasi antibakteri, antijamur, dan antiviral pada kromatogram hasil KLT. Metode ini berfungsi untuk menjembatani antara teknik pemisahan dan penilaian biologis (Pratiwi, 2008). Terdapat tiga macam jenis metode bioautografi, antara lain:

2.8.1 Bioautografi Langsung

Uji bioautografi langsung dilakukan dengan mengoleskan suspensi mikroorganisme pada plat KLT atau menempatkan plat pada permukaan media pertumbuhan. Hal ini meningkatkan sensitivitas plat KLT dan dapat mendeteksi agen antibakteri pada konsentrasi rendah. Setelah dilakukan pengolesan, kemudian diinkubasi pada suhu dan interval waktu tertentu (Pratiwi, 2008).

2.8.2 Bioautografi Kontak

Untuk melakukan uji bioautografi kontak, lempeng kromatogram yang berisi senyawa yang diuji ditempatkan pada media pertumbuhan padat yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Keberadaan senyawa antimikroba ditunjukkan oleh area yang tidak ditumbuhi mikroba (Kusumaningtyas, 2008).

2.8.3 Bioautografi *Overlay*

Uji bioautografi *overlay* dilakukan dengan menuangkan media agar yang telah dicampur dengan mikroorganisme ke permukaan plat KLT. Media ditunggu hingga padat, kemudian diinkubasi. Setiap area penghambatan kemudian diamati melalui penyemprotan dengan

tetrazolium klorida. Senyawa dengan aktivitas antimikroba akan muncul sebagai zona bening dengan latar belakang ungu (Pratiwi, 2008)

2.9 Pelarut

Menurut Agoes (2007) pelarut adalah zat cair atau gas yang mampu melarutkan bahan padat, cair, atau gas lainnya, sehingga menghasilkan larutan yang homogen. Pemilihan jenis pelarut tergantung pada senyawa yang akan diekstraksi. Namun, pelarut yang berbahaya harus dihindari. Saat menentukan pemilihan pelarut, beberapa faktor harus dipertimbangkan termasuk jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa, kemudahan ekstraksi dan proses penanganan berikutnya, toksisitas pelarut selama pengujian bioassay, dan potensi bahaya kesehatan (Tiwari *et al*, 2011). Dalam penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah n-Heksan.

2.9.1 n-Heksan

n-Heksan juga dikenal sebagai kaproil hidrida, adalah senyawa organik dengan rumus kimia C_6H_{14} . Alkana rantai lurus ini terdiri dari enam atom karbon yang terhubung dalam ikatan tunggal dengan empat belas atom hidrogen. n-Heksan termasuk ke dalam pelarut non polar. Titik didih n-Heksan adalah $66-71^{\circ}C$ pada tekanan 760 mmHg, dengan berat molekul 86,2 gram/mol (Tiwari *et al*, 2011).

n-Heksan dihasilkan dari penyulingan minyak mentah dan digunakan sebagai fraksi mendidih untuk produk industri dengan kisaran suhu $65-70^{\circ}C$. n-Heksan biasanya digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang menunjukkan sifat polaritas yang sama (Aziz *et al.*, 2009). Menurut Munawaroh & Astuti (2010) n-Heksan adalah pelarut yang efektif untuk mengekstraksi senyawa non polar. Senyawa ini adalah cairan tak berwarna yang tidak larut air dalam keadaan normal.

2.10 Standar Pengukuran Zona Hambat

Hasil uji penghambatan pertumbuhan jamur dikategorikan menurut diameter zona bening yang mengelilingi bahan uji. Diameter zona bening kurang dari 10 mm dianggap sebagai penghambatan yang lemah. Diameter antara 10 - 15 mm menandakan penghambatan sedang. Penghambatan yang

kuat dilambangkan dengan diameter zona bening berukuran 16 - 20 mm. Diameter yang lebih besar dari 20 mm mencerminkan penghambatan yang sangat kuat terhadap pertumbuhan jamur (Santoso *et al.*, 2020).

